

Ni-NTA 蛋白纯化试剂盒（变性）

名称：Ni-NTA 蛋白纯化试剂盒（变性）

英文名称：Ni-NTA Protein Purification Kit (Denaturing)

目录号：QYP1063

保存条件：室温（15-25℃），4℃

保质期：1 年

包含试剂：

名称	英文名称	规格	规格	保存条件
Ni-NTA 琼脂糖凝胶 预装柱	Ni-NTA agarose column	1ml	5ml	4℃
变性裂解液	Denature Lysis Buffer	10ml	50ml	室温
变性平衡液	DenatureBalance Buffer	20ml	100ml	室温
变性洗涤液	DenatureWash Buffer	10ml	50ml	室温
变性洗脱液	DenatureElution Buffer	10ml	50ml	室温

产品介绍

试剂盒 1ml 装 包括 1 根 1ml Ni-NTA 琼脂糖凝胶预装柱。

试剂盒 5ml 装 包括 1 根 6ml Ni-NTA 琼脂糖凝胶预装柱。

Ni-NTA 蛋白纯化试剂盒（变性）用于实验室的 His 标签融合蛋白包涵体表达纯化。表达菌株经 IPTG 诱导表达蛋白、超声破碎、离心分离后的沉淀，使用 8M 尿素溶解，流经 Ni-NTA 琼脂糖凝胶柱，样本中的 His 标签蛋白与 Ni-NTA 琼脂糖凝胶特异性结合，其他杂蛋白则不与柱子结合。样本经变性洗涤液洗涤除杂后，加入变性洗脱液，洗脱 His 标签蛋白。装柱后每根凝胶柱柱床体积为 1ml，可特异性结合 5-10mg 的 His 标签蛋白。单次蛋白纯化得率因蛋白种类、蛋白分子量大小而异。包涵体表达蛋白与 Ni-NTA 琼脂糖凝胶柱的结合率略低于上清表达蛋白。每根 Ni-NTA 琼脂糖凝胶柱可反复使用 8-10 次，其 His 标签蛋白结合效率不会显著降低。

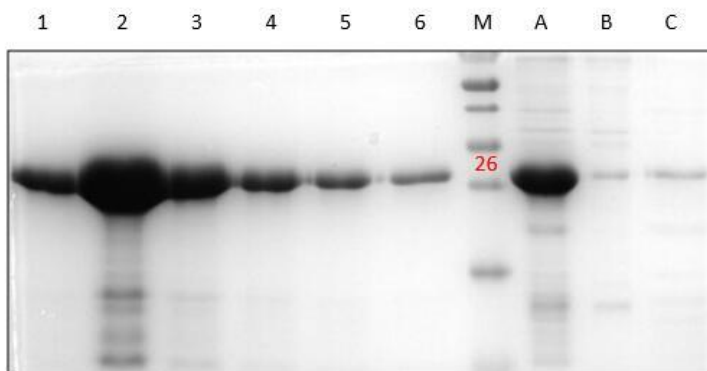
如需进行可溶性蛋白纯化，请购买 Ni-NTA 蛋白纯化试剂盒(非变性)(QYP1062)。如需要本试剂盒纯化试剂补充装，请购买 Ni-NTA 蛋白纯化试剂盒（变性）（补充装）（QYP1065）。

实验例：

实验名称：His-标签蛋白的过柱纯化（变性）

- 1.溶解：将含有目的蛋白的样本（超声破碎沉淀）以 1/10 体积重悬于变性裂解液中（例：100ml 菌体收获的沉淀使用 10ml 变性裂解液重悬），在旋转摇床上室温溶解 1h-2h，大部分沉淀应溶解。
- 2.离心：将溶解的样本 10000g 室温离心 10min。收上清。
- 3.装柱：将 Ni-NTA 蛋白纯化填料混匀。将下层筛板置于层析柱空柱底部。用剪开枪头尖的 1ml 枪头吸取 2ml Ni-NTA 凝胶混悬液，加入层析柱空柱。待液体流出后（柱床体积 1ml），向层析柱中加入 PBS，将上层筛板置于层析柱顶部，小心向下推直到接触凝胶表面，压实。筛板和凝胶层之间不要有气泡。
备注：如试剂盒中是 Ni-NTA 蛋白纯化预装柱，无需进行装柱。
- 4.平衡：用 10ml 变性平衡液洗柱子。
- 5.上柱：将步骤 2 所得上清加入层析柱。接住流穿液，反复上柱 3 次，使 His 标签蛋白与 Ni-NTA 填料充分结合。
- 6.洗涤：用 10ml 变性洗涤液洗柱子
- 7.洗脱：用 7ml 洗脱液洗脱目的蛋白。将样本收集到 1.5ml EP 管中，每管 1ml。
- 8.再生：用 10ml 变性平衡液洗柱子。
- 9.保存：使用后的柱子应加入 20%乙醇-PBS，盖上上下盖，直立保存在 4℃。
- 10.洗脱下来的蛋白可用 BCA 蛋白定量试剂盒和 SDS-PAGE 电泳鉴定其浓度和纯度。

实验结果举例：



His 标签重组蛋白变性纯化
蛋白：His-GFP
1-6. GFP 洗脱 1-6 管
A.包涵体溶解液
B.样本上柱流穿液
C. 洗涤液